

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 06-027106

(43)Date of publication of application : 04.02.1994

(51)Int.Cl.

G01N 33/533

C09B 69/10

G01N 21/64

G01N 33/53

(21)Application number : 05-077450

(71)Applicant : BAYER AG

(22)Date of filing : 12.03.1993

(72)Inventor : SIEGMUND HANS-ULRICH
HEILIGER LUDGER
LENT BOUDEWIJN VAN
BECKER ARNO

(30)Priority

Priority number : 92 4208645 Priority date : 18.03.1992 Priority country : DE

(54) BIOSENSOR

(57)Abstract:

PURPOSE: To make it possible to decide the presence and quantity of analyzing molecule by measuring the concentration of the molecule from the increase (decrease) in the relative fluorescence (fluorescence strength) of fluorescent dye by using a polymer anion-exchange layer.

CONSTITUTION: The biosensor comprises an arbitrary transparent carrier, monomolecular or multilayer disposed thereon, fluorescent dye F1 as donator dye chemically bonded to the uppermost layer, and antibody as acceptor ion bonded to the uppermost layer, wherein the antibody can be bonded as analyzing molecule labeled by fluorescent dye F2. Fester energy dislocation between the dye F1 and the dyes F1, F2 is utilized to detect the analyzing molecule in liquid phase capable of labeling by the dye F2. In this case, one or more exchange layer of polymer anion or polymer cation is used as monomolecular or multilayer, and the concentration of the bonded molecule is measured as the function of the increase (decrease) in the relative fluorescence strength (fluorescence strength) of the dye F2 (F1) or the change of the ratio between the two strengths. Thus, the presence and quantity of the molecule can be decided.

(19)日本国特許庁 (J P)

(12) 公 開 特 許 公 報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平6-27106

(43)公開日 平成 6 年(1994) 2 月 4 日

(51)Int.Cl.⁵

識別記号

庁内整理番号

F I

技術表示箇所

G 0 1 N 33/533

8310-2 J

C 0 9 B 69/10

7306-4 H

G 0 1 N 21/64

Z 9115-2 J

33/53

G 8310-2 J

審査請求 未請求 請求項の数 4 (全 8 頁)

(21)出願番号 特願平5-77450

(22)出願日 平成 5 年(1993) 3 月12日

(31)優先権主張番号 P 4 2 0 8 6 4 5 . 0

(32)優先日 1992年 3 月18日

(33)優先権主張国 ドイツ (DE)

(71)出願人 390023607

バイエル・アクチエンゲゼルシャフト

BAYER AKTIENGESELLS
CHAFT

ドイツ連邦共和国51368 レーヴァークー
ゼン 1 番バイエルヴェルク

(72)発明者 ハンス・ウルリヒ・ジークムント

ドイツ連邦共和国デー4150 クレーフェルト
1・ローンシュトラッセ100

(74)代理人 弁理士 小田島 平吉

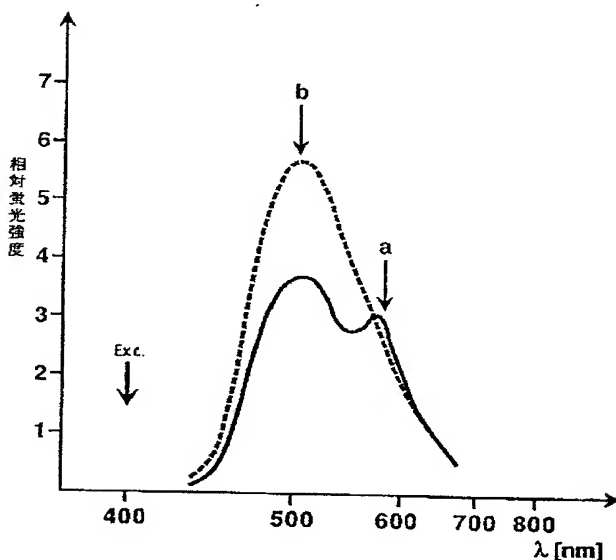
最終頁に続く

(54)【発明の名称】 バイオセンサー

(57)【要約】

【目的】 溶液中の物質同定のための蛍光染料でラベルできる分子検出のための光学的固相バイオセンサーを提供する。

【構成】 高分子アニオンまたは高分子カチオンの 1 またはそれ以上の交換層を単分子または多分子層として使用し、且つ結合された分析分子の濃度を、染料 F₂ の相対蛍光強度における増加または染料 F₁ の蛍光強度における減少もしくは二強度の比における変化の関数として測定することを特徴とするバイオセンサー。



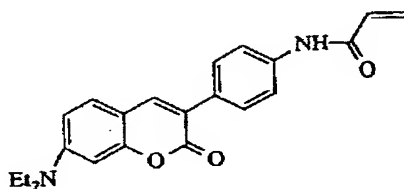
【特許請求の範囲】

【請求項1】 染料F₁でラベルすることができ、染料F₂によりF₁、F₂間のフェルスター（F o e r s t e r）エネルギー転移を利用してラベルできる液相中の分析分子検出のための受容体分子でラベルすることができ、

- a) 任意に透明な担体、
- b) そこに位置する単分子または多分子層、
- c) 最上層または最上層の一層中に化学的に結合した供与体染料としての蛍光染料F₁、
- d) 最上層に共有またはイオン結合した受容体としての抗体または抗原から構成され、
- e) 順次蛍光染料F₂でラベルされる分析分子として抗原または抗体が結合されることができ、ここで染料分子間の面間隔が放射線なしのフェルスター（F o e r s t e r）エネルギー転移を可能にしている光学的固相バイオセンサーであって、高分子アニオンまたは高分子カチオンの1またはそれ以上の交換層を単分子または多分子層b)として使用し、且つ結合された分析分子の濃度を、F₂の相対蛍光強度における増加またはF₁の蛍光強度における減少もしくは二強度の比における変化の関数として測定することを特徴とするバイオセンサー。

【請求項2】 分析分子としてのジゴキシンを特許請求の範囲第1項記載のバイオセンサーを用いて決定する方法であって、ガラス担体に適用するのは第1層としてポリジンであり、第2層としてはスルホプロピルメタクリル酸カリウムおよび染料F₁としての式I I

【化1】



のクマリンの共重合体、最上層としては受容体としてのジゴキシゲニンで誘導体化したポリジンであり、抗ジゴキシ免疫グロブリンGを溶液中の染料F₂としてのテトラメチルローダミニイソチオシアネートでラベルし、センサーを溶液に浸漬し、ジゴキシ含有溶液への浸漬後に染料F₂からの蛍光強度の減少または染料F₁からの蛍光強度の増加、もしくは二強度間の比の変化を測定することを特徴とする方法。

【請求項3】 特許請求の範囲第1項または第2項記載の光学的バイオセンサーの製造方法であって、1またはそれ以上の層を、高分子アニオンおよび高分子カチオン化合物の溶液への連続的交互浸漬により任意に透明な担体に適用し、それぞれの層の適用後担体を洗浄して乾燥し、バイオセンサー中高分子イオン最上層の1つは蛍光であり得る化学的に結合した染料F₁を含有し、最上層は共有またはイオン結合した受容体を含有することを特

徴とする方法。

【請求項4】 生化学的活性化合物類検出のための特許請求の範囲第1項または第2項記載の光学的バイオセンサーの用途。

【発明の詳細な説明】

【0001】本発明は溶解物質（以下分析物と称す）を同定するための蛍光染料でラベルできる分子検出のための光学的バイオセンサーに関するものであり、該溶解物質にはこれらを特異的に確認する生体分子（以下受容体と称す）が存在する。本センサーは、検出されるべき且つ第2の蛍光染料でラベルされる分子へのエネルギー転移方法を介しその存在と量の決定を可能にする蛍光染料を有する固相センサーの形態を取る。ラベルされない分析物の決定も置換反応またはサンドウィッチ反応により可能である。

【0002】分析物たとえば生物学的起源の液体試料中のホルモン、酵素、他の蛋白質、炭水化物、核酸、薬理学的活性物質、毒素その他の検出のためには種々の方法がある。公知の方法中傑出しているのは特に、ごく少量の有機物質決定のための繊細な分析方法の様な免疫アッセイおよびその関連方法である。免疫アッセイ法は一般に受容体分子たとえば抗体が有する、配位子分子の構造および分子組織が無極性および／または極性相互作用で規定されるかどうかを特異的に認識し、該分子を極めて特異的にその様な方法で結合する能力に基づいている。

【0003】免疫アッセイは様々な方法により実施される。これらの方法は種々のラベル技術、通常放射性、酵素結合および自ら持つ蛍光性の技術の使用を包含する E. F. Ulman, P. L. Khanna, Methods in Enzymology 74 (1981, 28~60)。放射線なしの蛍光エネルギー転移は前述の方法の特殊事例とみなすことができ、且つ2種の蛍光染料の接近の測定、さらにこれを介し受容体／配位子の一組の接近の間接的測定のために用いることができる

(L. Stryer, Annual Reviews in Biochemistry 47 (1978), 819~846)。この原理は免疫アッセイおよびバイオセンサー工学において幾度か言及された来た (S. M. Barnard, D. R. Walt, Science 251, 927 (1991); EP第150905号; DE第3938598号)。

【0004】供与体染料を受容体染料に対し超過量で用いることは特に有利である (DE第3938598号)。しかしながらこのために前者は固体の担体物質上でフェルスター (F o e r s t e r) 半径に対応して5乃至10nm厚さ以下で好ましくは単分子である層中に均一に適用されなければならない。これは現在までの技術水準ではラングミュアプロジェクト (L a n g m u i r - B l o d g e t t) 技術または化学吸着により達成して来た。両方法共精巧な装置を必要としある程度ま

で被覆基質の形状に左右されるか、またはセンサー原理の実質的機能には必要のない各々の場合に適用される分子上の精巧な官能基を相対的に必要とする。比較的単純な分子による上記の薄い蛍光層の製造性の簡易化が従って解決すべき極めて重要な問題である。

【0005】この問題は本発明において、蛍光染料が結合した高分子イオン巨大分子を純粋なイオン相互作用により荷電した担体物質上に吸収することにより解決された。高分子イオンで層を発生させる技術はドイツ国特許出願公開明細書出願番号P4026978、7号に記されている。驚くべきことにこの方法により匹敵する厚さおよび数のラングミュアブロッケット層よりも高い蛍光強度の達成が可能であり、一方製造は特に装置に関しかなり精巧さを欠くものでよいことが見出された。

【0006】本発明は以下の如き光学的固相バイオセンサーに関する：染料F₁および染料F₁、F₂間のフェルスター・エネルギー転移を利用して染料F₂によりラベルできる液相中の分析分子の検出のための受容体分子でラベルでき、

- a) 任意に透明な担体、
- b) その上に位置する単体または多分子層、
- c) 最上層または最上層の一層中に化学的に結合した供与体染料としての蛍光染料F₁、および
- d) 最上層に共有またはイオン結合した受容体としての抗体または抗原、から構成され、
- e) 抗原または抗体は次に蛍光染料F₂でラベルされる分析分子として結合されることができ、ここで染料分子間の面間隔が放射線なしのフェルスター・エネルギー転移を可能にしている、且つ高分子アニオンまたは高分子カチオンの1またはそれ以上の交替層を単分子または多分子層b)として使用し、結合された分析分子の濃度をF₂の相対蛍光強度における増加またはF₁の蛍光強度における減少、もしくは二強度間の比における変化の関数として測定することの特徴とする。

【0007】適用される層のための担体の好適な例はガラス類たとえばフロートガラス、石英ガラス、半導体物質類たとえばシリコン、プラスチック類たとえばポリエステル、ビニルポリマーまたはポリカーボネートおよび金属である。イオン相互作用により化合物を上へ吸着できるように担体表面には十分な数の荷電担体がなければならない。これは前述の物質のいくつかたとえばガラス類または表面酸化のシリコンによりある程度まで事実となっている。

【0008】これで不十分な場合には担体物質は化学的表面変性によりイオン基でたとえばドイツ国特許出願公開明細書出願番号P4026978、7号に記載されている様にアミノプロピル-エトキシジメチルシランで負荷することもできる。たとえば湿式化学的酸化、コロナ放電またはプラズマ処理による担体物質の酸化処理も*

供与体 (F₁)

* イオン化可能な表面を生じさせるための本技術の熟練者には公知の適当な方法である。この他に、表面は適用される第1層、共有結合の形成と、たとえばポリアミノ化合物を負荷するための塩化ビニリデン活性化の様に化学的に反応できる基を含有することもできる。

【0009】吸着高分子イオンとして高分子アニオンおよび高分子カチオンが必要である。適当で好ましい高分子カチオンはアミノ基を有する化合物たとえばポリリジン、ポリアリルアミン、ポリビニルピリジン、アミノ基で変性したデキストラン (たとえばDEAE-デキストラン)、およびキトサンである。アミノ化合物は簡単なプロトン化または四級化のいずれかによりイオン化状態に転換できる。アミノ基もまた、たとえば受容体分子付着のための供与体染料および/または反応基の様にわずかな程度まで官能基を有することができる。

【0010】適当で好ましいポリアニオンはポリカルボン酸類およびポリスルホン酸類である。これらの例はポリグルタメート、ポリスチレンスルホン酸、または硫酸デキストランである。ポリカチオンの場合同様この場合も官能基の付着が可能である。特にポリスレンスルホン酸および他のビニルスルホン酸の場合には、アクリル化クマリン染料またはアミノフルオレセインを取り入れるのが適当であることがわかる。このタイプの化合物の例は使用実施例1およびドイツ国特許出願公開明細書出願番号P4114482、1号に記載されている。

【0011】機能多分子層の構成は、担体を有機溶媒の添加物、ポリイオン類たとえばポリカチオンポリアニオン、その他の水溶液に洗浄過程を間に実施しながら連続的交互浸漬することにより起こる。高分子イオンは溶媒中で好ましくは0.01乃至1g/lの濃度、分子量並びに使用するコーティング技術に応じ且つ個々の場合に最適であることを必要とする最適濃度に溶解される。溶液のpHは10またはそれ以下に調節され、ポリアミノ化合物は既に四級化されていない限りプロトン化形態で且つ脱プロトンされず、続く担体のポリカチオン溶液への浸漬とも切り離されていることが重要である。最上層のひとつ (フェルスター半径5乃至10nm以内) は蛍光染料がそこに結合されるポリイオンを含有していなければならない。次にたとえば反応性固定層を有する抗体分子または抗原は最上層で固定されている。抗体の固定化に適するのは文献から公知の方法および試薬たとえばN-ヒドロキシサクシンイミドエステル、イソシアネートおよびイソチオシアネートである。使用実施例2はこの他に活性化ジトキシゲニンのポリリジンへの付着を示している。

【0012】フェルスター・エネルギー転移のための供与体/受容体の適当な一対の例は以下の染料の組合せである：

受容体 (F₂)

フルオレセイン誘導体
フルオレセイン誘導体
式 I のクマリン
式 I I のクマリン

テトラメチルローダミン
テキサス・レッド
テトラメチルローダミン
テトラメチルローダミン

前述の受容体染料は本技術の熟練者には公知の方法で、タンパク質受容体および種々の低分子量物質のいずれともアミノ基を有する限り反応することができる。次に、これらの結合部位で膜層に結合した相補的蛍光染料を用いてフェルスターエネルギー転移により蛍光ラベルされた結合相手を検出することが可能である。たとえばジギトキシゲニン改良のポリリジン（使用実施例2）にテトラメチルローダミンイソチオシアネート（TRITC）でラベルされたモノクロー抗体およびそのFabフラグメントを結合することが可能である。この方法では遊離ジゴキシゲニンを抗体の固相からの置き換えまたはラベルした抗体との以前からの反応により検出することができる〔R. G. Sommer 他、Clin. Chem. 36、201~206（1990）と同様〕。

10

* 【0013】分析物は単に被覆担体を試料溶液と接触させ、次に蛍光を測定することにより検出される。フェルスター・エネルギー転移は従来の蛍光分光計で測定できるが、たとえば出願番号P4116116、5のドイツ国特許出願中に記載されている様な、そのために特別に考案された装置でも測定することができる。

【0014】

【実施例】

使用実施例

1. クマリン含有のアニオンポリマーの合成

次の化合物をジメチルスルホキシド25ml中に溶解させた：

【0015】

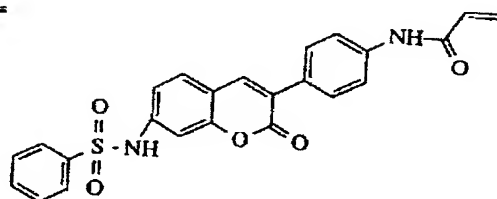
【表1】

ポリマー	A [g]	B [g]	C [g]
p-スチリルナトリウムスルホネート	2	3	—
スルホプロピルカリウムメタクリレート	—	—	2.66
クマリン I	2	1	—
クマリン II	—	—	1.33
アゾビスソープチロニトリル	0.02	0.02	0.02

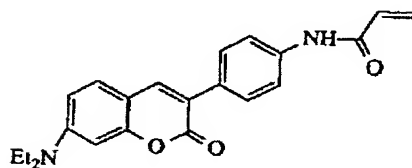
※ ※ 【化2】

【0016】

クマリン I



クマリン II



【0017】溶液を重合装置に入れた。

【0018】該装置を減圧し最純窒素で充填し、この過程を3度繰り返した；次に溶液を65℃に加熱し15時間反応させた。該反応溶液にアセトン200mlを滴下して加え、得られた沈積物を濾別し乾燥した。粗ポリマーに限外濾過を行なった。（カットオフ10,000ダルトン）。

【0019】収率 理論量の70~80%。

【0020】製造されたポリマーの物理的データ：

蛍光（水中、pH10で測定）

ポリマーA、B： ポリマーC

 λ_{exc} 385nm 410nm λ_{em} 498nm 499nm

分子量 (M_n 、水性ゲル浸透クロマトグラフィーで測定) :

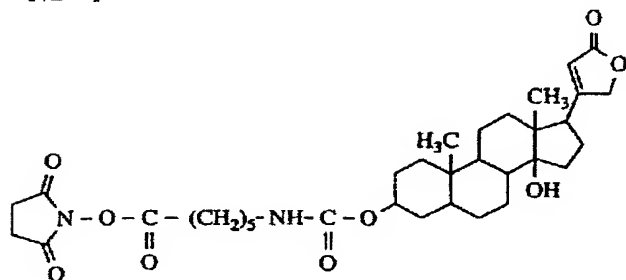
ポリマーA	ポリマーB	ポリマーC
150000	250000	180000

2. ポリリジンのジギトキシゲニンとの誘導体化

ポリ-DL-リジン25mgをメタノール15ml中に溶解させ、トリエチルアミン20 μ lを加えた。室温で攪拌している間にジギトキシゲニン- (6-アミノカプロイル-カルボキシ) -N-ヒドロキシサクシンイミド

【0021】

【化3】



【0022】22mgをイソプロパノール/クロロホルム (1:1、v/v) 5ml中に滴下して加えた。続いて該溶液を還流下で2時間、次に室温で8時間攪拌した。該反応混合物を減圧下で蒸発させ、水2ml中に取り出しセファデックス (Sephadex) G-25カラムでクロマトグラフを行なった (直径50cm \times 16cm、UV検出254nm、移動相: 水)。生成物含有留分を凍結乾燥した。

【0023】収率: 27mg (理論量の60%)

$^1\text{H-NMR}$ (250MHz, CDCl_3): 1.45 (m)、1.71 (m)、2.66 (s)、2.99 (m)、4.30 (m)、4.80 (m) ppm。

【0024】ジギトキシゲニン取り込みの免疫学的決定 [マイルズセラライザー (Miles Seralyzer) ジゴキシン・アッセイ・キット] は重量で2.5%のジゴキシン当量を示した。

【0025】3. ガラス・プレートの清浄および前処理
3.1 基本的清浄

フロートガラスで出来たスライドを超音波浴中で1分間水で処理し、表面のほこりを除いて洗浄しながら窒素で注意深く乾燥した。次にプレートを濃硫酸および過酸化水素の混合物 (7:3、v/v) 中に予備清浄のため入れ、その中で超音波浴に入れ80 $^{\circ}\text{C}$ で1時間処理した。室温に冷却した後該プレートを超音波浴に入れ水中でそれぞれ60秒ずつ3度処理し、水で酸を除き洗浄した。これを次に $\text{H}_2\text{O}/\text{H}_2\text{O}_2/\text{NH}_3$ (5:1:1、v/v/v) の混合物に入れ、その中で5分間80 $^{\circ}\text{C}$ で処理した。次に該プレートを塩がなくなるまで水で注意深く洗浄した。

【0026】3.2. アミノシラン化

シラン化反応の前にプレートをメタノール、メタノール/トルエン (1:1、v/v) およびトルエン中でそれぞれ2分間処理し水の痕跡を除去した。これをトルエン中5%強度 (v/v) の3-アミノプロピルジメチルエトキシシラン溶液の中で窒素雰囲気下で15時間反応放置した。最後に該プレートを超音波浴に入れトルエン、トルエン/ジメチルスルホキシド (DMSO) (1:1、v/v) およびDMSOでそれぞれ1分間ずつ処理した。

【0027】4. 単分子の発蛍光団含有フィルムでのフィルム素子の製造

一般的コーティング法

A) 試料プレートを溶液A (ポリカチオン) 中に20分間浸漬し、次に水10mlずつにそれぞれ20秒ずつ3度浸漬し乾燥放置した。

20 【0028】B) 続いてこれを溶液B (ポリアニオン) 中に20分間、再び水10mlずつに20秒間3度浸漬し、乾燥放置した。

【0029】4. 1. アミノ基群での負荷なしにフロートガラス上で

フロートガラスで出きたスライドを実施例3. 1. における様に前処理し、以下の溶液中への連続的浸漬により上述の方法で負荷した:

4. 1. 1

溶液A: pH8の0.05Mカーボネート緩衝剤10ml中ポリリジン5mg

溶液B: pH8の0.05Mカーボネート緩衝剤10ml中ポリマーC5mg

4. 1. 2.

溶液A: pH8の0.05Mカーボネート緩衝剤10ml中DEAE-デキストラン0.5mg

溶液B: pH8の0.05Mカーボネート緩衝剤10ml中ポリマーC0.5mg

4. 1. 3.

溶液A: pH8の0.05Mカーボネート緩衝剤10ml中ポリリジン10mg;

溶液B: pH8の0.05Mカーボネート緩衝剤10ml中ポリマーC1mg

4. 1. 4

溶液A: 3mM塩酸10ml中DEAE-デキストラン1mg;

溶液B: 3mM塩酸10ml中ポリマーC1mg

4. 1. 5.

溶液A: 3mM塩酸10ml中ポリビニルピリジン (Reil line 2200) 0.1mg;

50 溶液B: 3mM塩酸10ml中ポリマーA10mg

4. 2. アミノ基群で負荷し、フロートガラス上でフロートガラスで出来たスライドを実施例3. 2. における様に前処理し、改良された一般的方法で溶液Bへの浸漬のみで負荷した。4. 1. 1. から4. 1. 4. の溶液を使用できる。

【0030】4. 3. ポリエステル・フィルム上で塩化ビニリデンで表面活性化したポリエステル・フィルムの一片を、さらに清浄段階を経ずに既出の一般的方法と同様に被覆した。4. 1. 1. から4. 1. 4. の溶液を使用できる。

【0031】5. TRITCラベルの抗ジゴキシンIgGの層素子への結合の測定

実施例4. 1. 3. における様に被覆した担体を次にジギトキシングニン誘導体化のポリリジン(実施例2) 0. 1 mg/ml 溶液への浸漬および一般的方法による洗浄により特異的結合層で被覆した。

【0032】続いてプレートをTRI抗ジゴキシンIgG(テトラメチルローダミンイソチオシアネートと抗ジゴキシンIgGの反応により製造; タンパク質濃度0. 1 mg/ml) で湿潤させた。緩衝剤(15 mM KH₂ PO₄, 25 mM シトレート, 1 mM MgCl₂, 50 mM KCl, 0. 4 g/l Na₂N₃, 1 g/l ウシ血清アルブミン, pH 6. 4) で洗浄後再びTRITC(587 nm)(図1、曲線a)の蛍光のため消光するポリマーC(509 nm)からのクマリンの蛍光を1度測定した。対照としてジギトキシングニン誘導体化ポリリジンの代わりに、最上層の結合を不可能にしエネルギー転移を起こさせない非誘導体化ポリリジンを同濃度で使用した。

【0033】本発明の主なる特徴および態様は以下のとおりである。

【0034】1. 染料F₁でラベルすることができ、染料F₂によりF₁、F₂間のフェルスター(Foerster)エネルギー転移を利用してラベルできる液相中の分析分子検出のための受容体分子でラベルすることができ、

a) 任意に透明な担体、
b) そこに位置する単分子または多分子層、
c) 最上層または最上層の一層中に化学的に結合した供与体染料としての蛍光染料F₁、
d) 最上層に共有またはイオン結合した受容体としての抗体または抗原

から構成され、

e) 順次蛍光染料F₂でラベルされる分析分子として抗原または抗体が結合されることができ、ここで染料分子

間の面間隔が放射線なしのフェルスター(Foerster)エネルギー転移を可能にしている光学的固相バイオセンサーであって、高分子アニオンまたは高分子カチオンの1またはそれ以上の交換層を単分子または多分子層b)として使用し、且つ結合された分析分子の濃度を、F₂の相対蛍光強度における増加またはF₁の蛍光強度における減少もしくは二強度の比における変化の関数として測定することを特徴とするバイオセンサー。

【0035】2. 最上層から分析分子e)が、蛍光染料F₂でラベルされ最上層に結合された分析物でない分子を置換し、最終結合の分析分子の濃度をF₂の相対蛍光強度における減少またはF₁の相対蛍光強度における増加、もしくは二強度の比の変化の関数として測定する上記1項における光学的バイオセンサー。

【0036】3. フロートガラス、石英ガラス、シリコン、ポリエステル、ビニルポリマーまたはポリカーボネートを担体物質a)として使用する上記1項または2項における光学的バイオセンサー。

【0037】4. 高分子アニオン化合物類がポリグルタミン酸、ポリスチレンスルホン酸、硫酸デキストランまたはスチレンスルホン酸または他のビニルスルホン酸および蛍光染料のビニル誘導体の共重合体である上記1項または2項における光学的バイオセンサー。

【0038】5. 高分子アニオン化合物類が、スチレンスルホネートまたはスルホプロピルメタクリレートとクマリン染料のアクリレートとの共重合体である上記4項における光学的バイオセンサー。

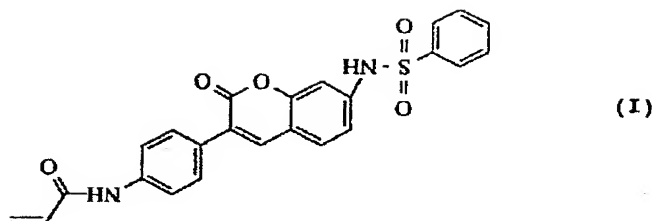
【0039】6. 高分子カチオン化合物類がポリリジン、ポリアリルアミン、ポリビニルピリジン、キトサンまたは過メチル化により四級化したアンモニウム塩類、またはDEAE-デキストランである上記1項または2項における光学的バイオセンサー。

【0040】7. 高分子カチオン化合物類がポリアミノ化合物類たとえばイソシアン酸フルオレセインまたは他の反応性染料で部分的に誘導体化したポリリジンまたはポリアリルアミンである上記6項における光学的バイオセンサー。

【0041】8. フェルスター(Foerster)転移に適し、使用される染料F₁およびF₂の一对がフルオレセイン誘導体とテトラメチルローダミン、フルオレセイン誘導体とテキサス・レッド(Texas red)式Iのクマリンとテトラメチルローダミン

【0042】

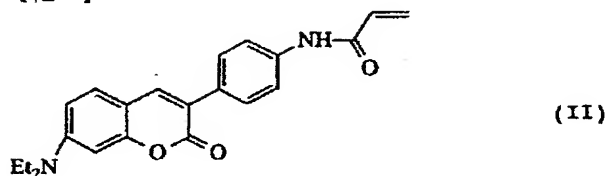
【化4】



【0043】または式 I I のクマリンとテトラメチルローダミン

【0044】

【化5】



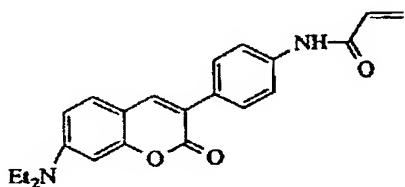
【0045】であることを特徴とする上記1項または2項における光学的バイオセンサー。

【0046】9. 式 I のクマリンとテトラメチルローダミンまたは式 I I のクマリンとテトラメチルローダミンを染料 F₁ および F₂ の一組として使用する上記8項における光学的バイオセンサー。

【0047】10. 分析分子としてのジゴキシンを上記1項記載のバイオセンサーを用いて同定する方法であって、ガラス担体に適用するのは第1層としてポリジンであり、第2層としてはスルホプロピルメタクリル酸カリウムおよび染料 F₁ としての式 I I

【0048】

【化6】



【0049】のクマリンの共重合体、最上層としては受容体としてのジギトキシゲニンで誘導体化したポリリジンであり、抗ジゴキシン免疫グロブリン G を溶液中の染料 F₂ としてのテトラメチルローダミニソチオシアネートでラベルし、センサーを溶液に浸漬し、ジゴキシン含有溶液への浸漬後に染料 F₂ からの蛍光強度の減少または染料 F₁ からの蛍光強度の増加、もしくは二強度間の比の変化を測定することを特徴とする方法。

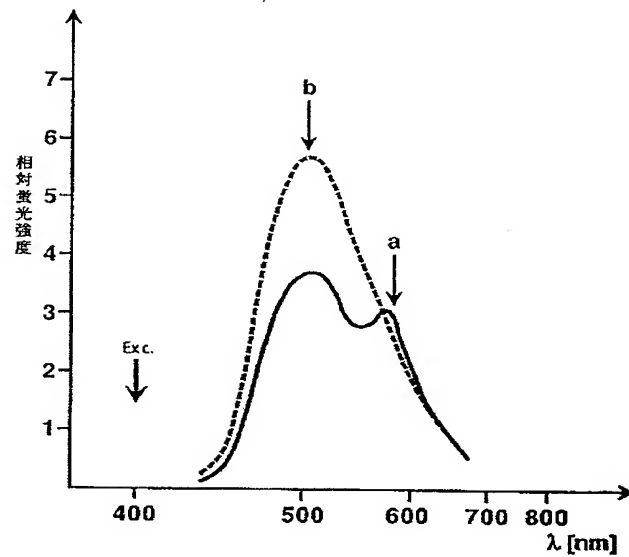
【0050】11. 上記1項または2項記載の光学的バイオセンサーの製造方法であって、1またはそれ以上の層を、高分子アニオンおよび高分子カチオン化合物の溶液への連続的交互浸漬により任意に透明な担体に適用し、それぞれの層の適用後担体を洗浄して乾燥し、バイオセンサー中高分子イオン最上層の1つは蛍光であり得る化学的に結合した染料 F₁ を含有し、最上層は共有またはイオン結合した受容体を含有することを特徴とする方法。

【0051】12. 生化学的活性化化合物類検出のための上記1項または2項記載の光学的バイオセンサーの用途。

【図面の簡単な説明】

【図1】図1は波長と相対蛍光強度との関係を示すグラフである。

【図1】



フロントページの続き

(72)発明者 ルトガー・ハイリガー
ドイツ連邦共和国デー5090レーフェルクー
ゼン1・カールールンプフーシュトラッセ
8

(72)発明者 ボウデビイン・フアン・レント
ドイツ連邦共和国デー5060ベルギツシュグ
ラートバツハ・インデルアウエン19
(72)発明者 アルノ・ベツカー
ドイツ連邦共和国デー4150クレーフエルト
1・ボーデルシュビングシュトラッセ22